



## **Determinação da Atividade Antioxidante, *in vitro*, da casca de *Ximenia americana* L., pelo método DPPH**

**Thayane Melo de Queiroz<sup>1</sup>, Emanuel Laurertan Tavares França<sup>1</sup>, Ana Raquel da Silva Araújo<sup>2</sup>, Ana Angélica Mathias Macêdo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Graduandos em Licenciatura em Química- IFCE. Bolsistas da FUNCAP. e-mail: thayanemelo23@hotmail.com

<sup>2</sup>Doutora/Pesquisadora e-mail: anaraquelaraujosilva@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Doutora/Professora do curso de Química – IFCE. e-mail: anaangellica@yahoo.com

**Resumo:** A humanidade começou a utilizar os recursos terapêuticos das plantas através do consumo de chás. No entanto, foi apenas no século XX com a descoberta de métodos analíticos e ensaios farmacológicos que ocorreu o avanço das pesquisas desses chás, contribuindo para a identificação de substâncias ativas no organismo humano. Dentre as diversas plantas medicinais utilizadas popularmente encontra-se a *Ximenia americana* L. Sendo que sua casca é utilizada para fins medicinais, tais como: inflamações da boca e da garganta, adstringentes, cicatrização de ferimentos e úlceras. As cascas da *Ximenia americana* L. foram adquiridas na cidade de Baturité-CE e o teor de antioxidantes foi determinado pelo método DPPH. O extrato etanólico da casca da ameixa apresentou  $EC_{50}$  igual a  $156,4 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ . Por meio dos resultados obtidos, conclui-se que o extrato etanólico da casca da ameixa possui satisfatória capacidade de sequestrar radicais livres. Diante dos resultados sugere-se que a casca da ameixa-brava (*Ximenia americana* L.) deve ser utilizada com mais frequência no setor farmacêutico, uma vez que previne doenças e é uma forma de cura rápida e de baixo custo, beneficiando principalmente a população de baixa renda.

**Palavras-chaves:** Atividade Antioxidante, DPPH, *Ximenia americana* L

### **1.INTRODUÇÃO**

Antioxidantes são substâncias capazes de prevenir e atrasar os processos oxidativos dos substratos oxidáveis. São classificados em dois grupos: enzimáticos e não enzimático. O enzimático, composto pelas enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GPx) e Catalase (Cat). Enquanto o não enzimático é representado pelos oligoelementos, vitaminas, carotenóides, flavonóides, dentre outros compostos (MARTINS, 2010).

A ingestão de antioxidantes naturais diminui a formação de radicais livres e conseqüentemente, ocorre uma menor incidência de doenças associadas ao estresse oxidativo (ASOLINI *et al*, 2006). O estresse oxidativo é ocasionado pelo desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, o que ocasiona perdas celulares (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

O estresse oxidativo ocasiona diversas doenças como: Artrite, Aterosclerose, Diabetes, Catarata, Esclerose múltipla, Inflamações crônicas, Disfunção cerebral, Câncer, dentre outras (BIANCHI; ANTUNES, 1999). A ocorrência de doenças levou ao desenvolvimento de diversos métodos para determinar a atividade antioxidante (BATISTA, 2010).

Os métodos para determinar a atividade antioxidante podem ser baseados no poder de redução do metal (FRAP), na captura do radical peroxila (ORAC), captura do radical orgânico (ABTS) e captura de radical livre (DPPH), dentre outros métodos (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Destacando-se o método de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), em que se baseia na transformação do DPPH na forma (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) ao reagir com o antioxidante. A descoloração de violeta para amarelo ocorre quando o antioxidante cede um átomo de hidrogênio para reagir com o elétron desemparelhado do radical DPPH (Figura 1), produzindo o DPPH-H reduzido (MOTTA, 2009).

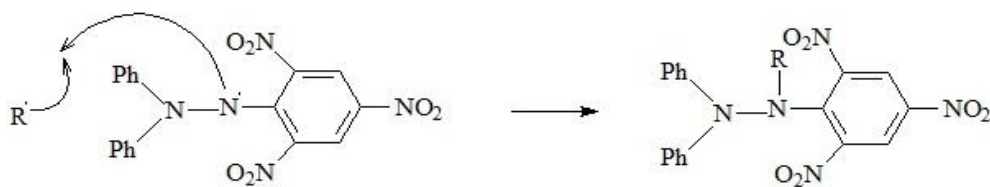


Figura 1. Estabilização do Radical livre, DPPH.

Vicentino e Menezes (2007), analisaram a atividade antioxidante pelo método DPPH, das tinturas-mães comercializadas em farmácias de manipulação: *Matricaria chamomilla* L. (camomila), *Aesculus hippocastanum* L. (castanha-da-índia), *Hydrocotyle asiatica* L. (centela asiática), *Melissa officinalis* L. (erva cidreira), *Ginkgo biloba* L. (ginkgo), *Psidium guajava* L. (goiabeira), *Mikania glomerata* (guaco), *Hamamelis virginiana* L. (hamamelis), *Pilocarpus jaborandi* Hulmes (jaborandi), *Erythrina velutina* Wild (mulungu), *Passiflora coerulea* L. (passiflora), *Capsicum annuum* L. (pimentão), *Mentha pulegium* L. (poejo) e *Valeriana officinallis* L. (valeriana). Pode-se sugerir que antioxidantes são comumente encontrados em fontes vegetais.

O Brasil tem uma área de oito milhões e meio de quilômetros quadrados, apresentando diversos tipos de clima e relevo, com fauna e flora incomparável no mundo inteiro. No entanto, durante cinco séculos, o país conseguiu manter a tradição da Fitoterapia passada de pais a filhos. Essa prática esta relacionada ao baixo acesso de grande parte da população aos modernos recursos da medicina, encontrando nas plantas cura rápida (IAMONI, 1997). Fitoterapia é o termo que se refere ao ramo do conhecimento que utiliza plantas medicinais para curar doenças. Essa cultura é difundida a cada geração, através de raizeiros, curandeiros e benzedeiros, geralmente, as famílias utilizam as plantas em formas de chás, infusões e lambedores. (DANTAS; GUIMARÃES, 2007).

A humanidade começou a utilizar os recursos terapêuticos das plantas através do consumo de chás, que na maioria das vezes eram usados em rituais sagrados. No entanto, foi apenas no século XX com a descoberta de métodos analíticos e ensaios farmacológicos que ocorreu o avanço das pesquisas desses chás, contribuindo para a identificação de diversos produtos naturais presentes nas plantas, considerado como substâncias ativas no organismo humano. Foi a partir das descobertas dessas substâncias ativas que as plantas começaram a serem utilizadas com o intuito de curar as doenças (LEITE, 2009).

Dentre as diversas plantas medicinais utilizadas popularmente encontra-se a *Ximenia americana* L., comumente encontrada na África e na América do sul, pertencente à família *Olacaceae*, do gênero *Ximenia*. É conhecida pelos nomes de ameixa-brava, ameixa-da-bahia e ameixa-de- espinho (MATOS, 2007). Apresenta outros nomes populares como, ambuy, ameixa-da terra, ameixa-do-brasil, limão bravo-do-brejo, sândalo-do-brasil, umbu-bravo (PLANTAMED, 2012). No Brasil, é encontrada nos estados do Pará, Bahia, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e com muita frequência no estado do Ceará. Mantém-se verde durante um longo período da estação seca e recupera as folhas perto do início da temporada das chuvas (ROCHA, 2009).

A árvore possui casca vermelha e lisa, pequenas folhas e flores branco-avermelhadas. Sendo que sua casca é utilizada para fins medicinais, tais como: inflamações da boca e da garganta, adstringentes, hemorróidas, menstruação excessiva e prolongada, cicatrização de ferimentos e úlceras (MATOS, 2007). O fruto da Ameixa apresenta formato arredondado e, quando maduro a casca tem coloração amarela sendo uma fonte rica de vitamina C, com teor de 215,12 mg/ 100 g de polpa (SILVA *et al*, 2008).

De acordo com Quintans e colaboradores (2002), ao testar camundongos albinos Swiss com o extrato etanólico da *Ximenia americana* L. ocorreu um aumento na latência para o aparecimento das convulsões, sendo uma prova que o extrato apresenta ação anticonvulsivante. Koné e colaboradores (2004) testaram extratos etanólicos de 50 plantas utilizadas como remédio contra bactérias, o extrato das raízes de *Ximenia americana* L., foi um dos 10 que apresentou maior atividade contra bactérias gram positivas, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus pyogenes*, com EC<sub>50</sub> de 94µg/mL.

Através de testes para avaliar a atividade microbiana, constatou-se que os extratos das folhas de Ameixa atuam contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, e no extrato foi determinado à presença de taninos, flavonóides, alcalóides, saponinas, antaquinonas e glicosídeos (MATOS, 2007). Uchoa e colaboradores (2006) avaliaram a atividade moluscicida da casca de *Ximenia americana* frente ao caramujo adulto *Biomphalaria glabrata* e observou que a madeira do caule apresenta atividade moluscicida significativa. Já Maikai, Kobo e Maikai (2010) analisaram o extrato metanólico da casca da Ameixa e obtiveram resultado positivo para a presença de taninos, alcalóides, flavonóides e saponinas. E avaliando a atividade antioxidante do extrato, usando DPPH, obteve-se um EC<sub>50</sub> de 82,50 ± 3,60 µg/mL.

O presente trabalho tem por objetivo determinar a atividade antioxidante por meio do método DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) do extrato etanólico da casca da Ameixa, esperando que os resultados possam contribuir para sensibilização da população do valor medicinal da ameixa-brava (*Ximenia americana* L.).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As cascas de *Ximenia americana* L. foram adquiridas na cidade de Baturité-CE, sendo desidratadas, pulverizadas e o pó resultante foi armazenado até utilização.

O pó foi submetido à extração etanólica (96%), por sete dias, à temperatura ambiente. Após remoção do solvente, o extrato foi dissolvido em metanol e foram preparadas diluições seriadas nas concentrações: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ppm.

A atividade antioxidante (figura 2) foi determinada pelo método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), que utilizou uma solução metanólica do radical DPPH (6,5 \*10<sup>-5</sup>M). Transferiu-se uma alíquota de 0,1mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio e acrescentou-se 3,9 mL da solução estoque de DPPH, até completa homogeneização. Ao branco, adicionou-se álcool metílico absoluto e em outro tubo, DPPH com 0,1 mL de álcool metílico. Todos os tubos permaneceram por uma hora em ambiente sem iluminação. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515nm (Yepez *et al.*, 2002).

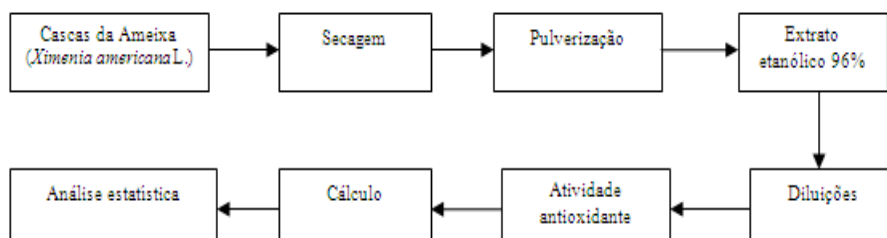


Figura 2. Fluxograma da metodologia para determinar a atividade antioxidante da casca de *Ximenia americana* L.

Em seguida, encontrou-se o índice de varredura, que é obtido de acordo com a seguinte fórmula:

$$IV = \left( \frac{\text{AbsDPPH} - \text{AbsAmostra}}{\text{AbsDPPH}} \right) \times 100$$

Onde: Abs DPPH é a absorvância apenas do DPPH; Abs Amostra é a absorvância das amostras em diferentes concentrações.

Após encontrar o índice de varredura plotou um gráfico de regressão linear, encontrando o EC<sub>50</sub>.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico apresentou um rendimento de 12,4%. Esse extrato foi utilizado para avaliar a atividade antioxidante pelo método de DPPH. E a figura 3, abaixo, representa o gráfico obtido através do cálculo de índice de varredura, em que, se obteve a seguinte equação da reta:  $y = 0,284x + 5,582$ , através desta equação pode-se encontrar a concentração eficiente (EC<sub>50</sub>), ou seja, a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, já correlação linear  $R^2 = 0,98$  representa a linearidade da reta, as distorções observadas podem ter sido ocasionadas por erros do operador ou do equipamento. O  $R^2$  mostra que a reta teve linearidade de 98%.

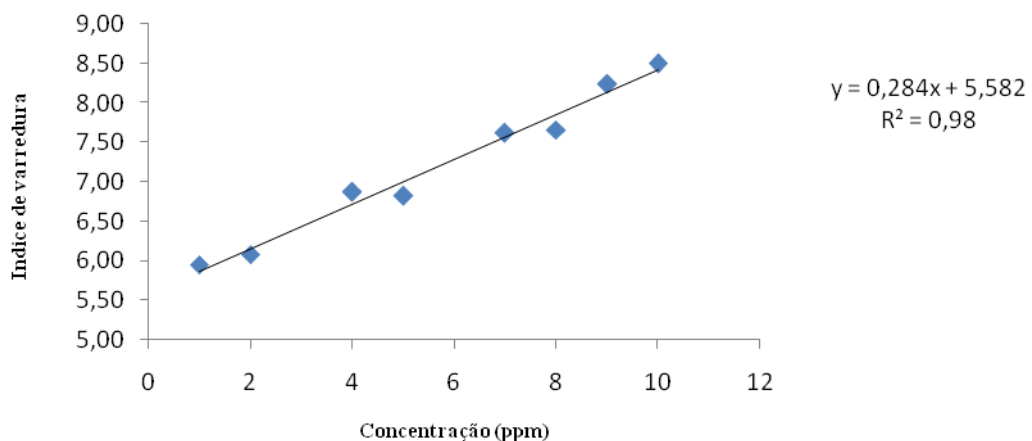


Figura 3. Reta de regressão linear da ação antioxidante do extrato etanólico da ameixa-brava (*Ximenia americana* L.).

Através da equação da reta (figura 3), o extrato etanólico de *Ximenia americana* L. apresentou EC<sub>50</sub> (capacidade de seqüestro de radicais livres) =  $156,4 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ . Enquanto Maikai e colaboradores (2010), avaliando a atividade antioxidante pelo método de DPPH, encontraram EC<sub>50</sub> igual a  $82,50 \pm 3,60 \mu\text{g/mL}$  para o extrato metanólico da casca ameixa. Dias (2010), analisou a atividade antioxidante da casca do caule da *Ximenia americana* L. pelo método DPPH em diferentes extratos: extrato etanólico, fração clorofórmica, fração acetato, fração aquosa, encontrando EC<sub>50</sub> de  $32,7 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$ ;  $84,2 \pm 3 \mu\text{g/mL}$ ;  $29,6 \pm 2,9 \mu\text{g/mL}$ ;  $33,6 \pm 5,1 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Ferreira e colaboradores (2011), avaliaram a atividade antioxidante das folhas, pelo método DPPH em diferentes extratos: extrato metanólico, extrato acetato de etila, extrato clorofórmico, obtendo IV<sub>50</sub> de 7,71; 2,88; 88,8 mg/mL, respectivamente.

Sugerindo que a diferença de resultados entre os obtidos nesse trabalho e os encontrados na literatura, pode ser justificado pela mudança de solvente, bem como a forma de extração dos constituintes.

### 4. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos, conclui-se que o extrato etanólico da casca da *Ximenia americana* L. possui satisfatória capacidade de sequestrar radicais livres. Diante dos resultados



sugere que a casca de *Ximenia americana* L. deve ser utilizada com mais frequência pelas indústrias de diversos setores que necessitam de compostos antioxidantes, beneficiando principalmente a população de baixa renda. Pesquisas posteriores usando outros métodos e solventes serão realizadas com o objetivo de confirmar a presença de antioxidantes na planta.

Apesar de a *Ximenia americana* L. ter apresentado atividade antioxidante novos estudos devem ser realizados para o isolamento e identificação de outras substâncias ativas no organismo humano.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Funcap, CNPq e Capes pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T.; FERRAZ, C.; ALENCAR S. M. Atividade Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como Chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, Technol., v.9, n.3, p. 209-215, jul./set. 2006.

BATISTA, P. F. **Qualidade, Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante em frutas produzidas no submédio do vale do São Francisco**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2010.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, Campinas, 12(2): 123-130 maio/ago., 1999.

DANTAS, I. C.; GUIMARÃES, F. R. Plantas medicinais comercializadas no município de Campina Grande, PB. **Revista de Biologia e Farmácia**, V.1, n.1, 2007.

DIAS, T. L. M. F. **Estudo da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico, frações e de uma epicatequina isolada da casca do caule da espécie *Ximenia americana* L (Olacaceae)**. 2010. Dissertação (mestrado em ciência da saúde)- Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2010.

FERREIRA, P. A. T.; FALCÃO, M. J. C.; SIQUEIRA, S. M. C.; ALVES, M. D. S.; COSTA, I. R. S.; CAVALCANTI, E. S. B.; MORAIS, S. M.; XAVIER, C. T. A. DOS S. Prospecção Fitoquímica e atividade sequestradora de radicais livres de extratos das folhas da ameixa do mato (*ximenia americana* L.). In 51º Congresso Brasileiro de Química, 2011, São Luís. **Anais eletrônicos**. Disponível em: < <http://www.abq.org.br/cbq/2011/trabalhos/1/index.html>>. Acesso em: 02 Jul. 2012

IAMONI, R. **A cura pelos remédios caseiros**. Rio de Janeiro: Ediouro, 1997.

KONÉ, W. M.; ATINDEHOU, K. Kamanzi; TERREAUX, C.; HOSTETTMANN, K.; TRAORÉ, D.; DOSSO, M. Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.93, p.43-49, 2004.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Atheneu, 2009.

MAIKAI, V. A.; KOBO, P. I.; MAIKAI, B. V. O. Antioxidant properties of *Ximenia americana*. **African Journal of Biotechnology**, Vol. 9(45), pp. 7744-7746, Nov., 2010.



MARTINS, C. A. **Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro* e *in vivo* do Guaraná (*Paullinia cupana*) em pó.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MATOS, F. J. De A. **Plantas Medicinais.** 3ª Ed. Fortaleza: UFC, 2007.

MOTTA, E. L. **Avaliação da Composição Nutricional e Atividade Antioxidante de Litchi chinensis Sonn. (“Lichia”) Cultivada no Brasil.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

PLANTAMED. 2012. Disponível em: < <http://www.plantamed.com.br>>. Acesso em: 03 abr. 2012.

QUINTANS JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; AGRA, M. F.; SOUSA, M. F. V.; BARBOSA FILHO, J. M. Avaliação da Atividade Anticonvulsivante de Plantas do Nordeste Brasileiro. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 21, p.179-184, 8 Jun. 2002.

ROCHA, F. A. G. **PLANTAS MEDICINAIS: um perfil etnofarmacológico.** Natal: IFRN, 2009.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, p. 121 – 137 2002.

SILVA, G. G; SOUZA, P. A.; MORAIS, P. L. D.; SANTOS, E. C.; MOURA, R. D.; MENEZES, J. B. Caracterização do fruto de ameixa silvestre (*Ximenia americana* L.). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 2, p. 311-314, Junho 2008.

Uchoa, V. T.; Júnior, R. A.; Carvalho, C. M.; Abreu, F. C.; Goulart, H. F.; Santana, E. G. **Ação Moluscicida da Madeira do Caule da *Ximenia americana* L.** In 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006.

VICENTINO, A. R. R.; MENEZES, F. S. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 384-387, Jul./Set. 2007.

Yopez, B., Espinosa, M., López, S., Bolanos, G. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. **Fluid Phase Equilibria** v.194, p. 879, 2002.